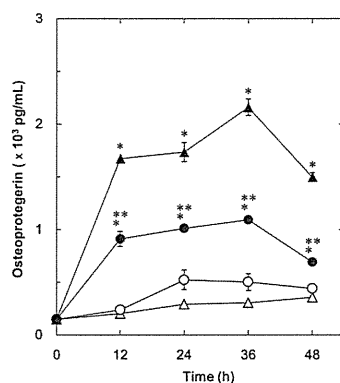
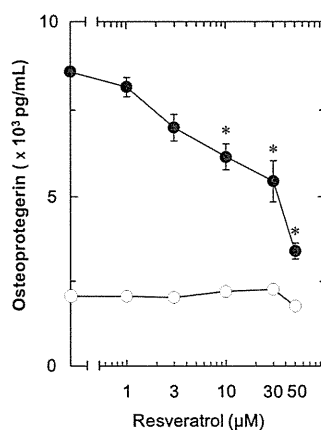


**Figure 1.** The effect of resveratrol on the FGF-2-stimulated osteoprotegerin release in MC3T3-E1 cells. The cultured cells were pretreated with 50  $\mu$ M of resveratrol ( $\bullet, \circ$ ) or vehicle ( $\blacktriangle, \triangle$ ) for 60 min and then stimulated by 30 ng/mL of FGF-2 ( $\bullet, \blacktriangle$ ) or vehicle ( $\circ, \triangle$ ) for the indicated periods. Osteoprotegerin concentrations of the culture medium were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Each value represents the mean  $\pm$  SEM of triplicate determinations from three independent cell preparations. \*  $p < 0.05$ , compared to the value of control. \*\*  $p < 0.05$ , compared to the value of FGF-2 alone.



**Figure 2.** The dose-dependent effect of resveratrol on the FGF-2-stimulated osteoprotegerin release in MC3T3-E1 cells. The cultured cells were pretreated with various doses of resveratrol for 60 min and then stimulated by 30 ng/mL of FGF-2 ( $\bullet$ ) or vehicle ( $\circ$ ) for 48 h. Osteoprotegerin concentrations of the culture medium were determined by ELISA. Each value represents the mean  $\pm$  SEM of triplicate determinations from three independent cell preparations. \*  $p < 0.05$ , compared to the value of FGF-2 alone.



### 2.1.2. Effect of SRT1720 on the FGF-2-Stimulated Osteoprotegerin Release in MC3T3-E1 Cells

SRT1720 is known as a specific and potent synthetic activator of SIRT1 [26]. We investigated the effect of SRT1720 on the FGF-2-stimulated osteoprotegerin synthesis in MC3T3-E1 cells. SRT1720 significantly suppressed the FGF-2-stimulated osteoprotegerin release (Table 1). Treatment with SRT1720 (10  $\mu$ M) caused an approximately 30% decrease in osteoprotegerin release compared to the levels with FGF-2 alone.

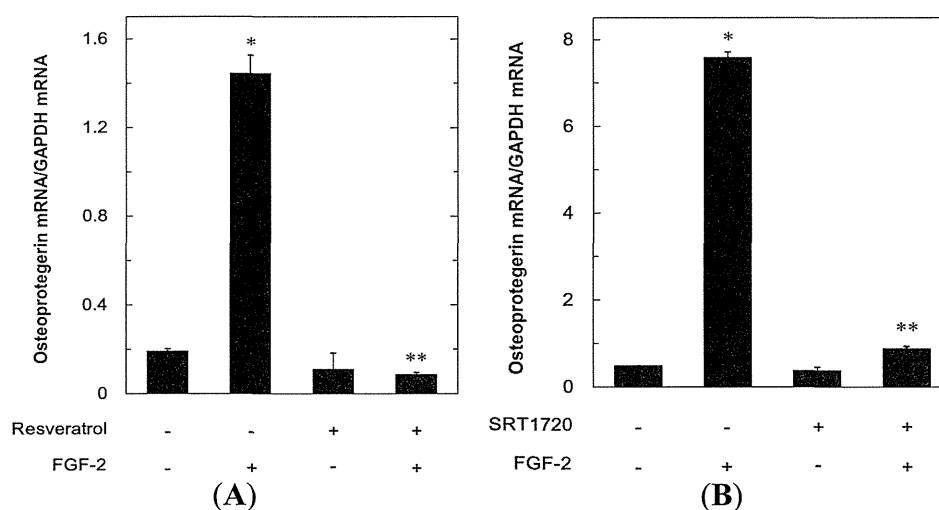
**Table 1.** The effect of SRT1720 on the FGF-2-stimulated osteoprotegerin release in MC3T3-E1 cells. The cultured cells were pretreated with 10  $\mu$ M of SRT1720 or vehicle for 60 min and then stimulated by 30 ng/mL of FGF-2 or vehicle for 48 h. Osteoprotegerin concentrations of the culture medium were determined by ELISA. Each value represents the mean  $\pm$  SEM of triplicate determinations from three independent cell preparations. \*  $p < 0.05$ , compared to the value of control. \*\*  $p < 0.05$ , compared to the value of FGF-2 alone.

SRT1720	FGF-2	Osteoprotegerin (pg/mL)
–	–	575 $\pm$ 9
–	+	3,590 $\pm$ 299 *
+	–	514 $\pm$ 38
+	+	2,665 $\pm$ 72 **

### 2.1.3. Effects of Resveratrol or SRT1720 on the FGF-2-Induced Expression of mRNA Osteoprotegerin in MC3T3-E1 Cells

In order to elucidate whether the inhibitory effects of resveratrol or SRT1720 on the FGF-2-stimulated osteoprotegerin release were mediated through a transcriptional event, we examined the effect of resveratrol or SRT1720 on the FGF-2-induced osteoprotegerin mRNA expression by real-time RT-PCR. Resveratrol significantly suppressed the osteoprotegerin mRNA expression levels induced by FGF-2 (Figure 3A). In addition, SRT1720 markedly attenuated the FGF-2-induced osteoprotegerin mRNA expression (Figure 3B).

**Figure 3.** The effects of resveratrol or SRT1720 on the FGF-2-induced expression of osteoprotegerin mRNA in MC3T3-E1 cells. (A) The cultured cells were pretreated with 50  $\mu$ M of resveratrol for 60 min or vehicle, and then stimulated by 30 ng/mL of FGF-2 or vehicle for 3 h; and (B) The cultured cells were pretreated with 10  $\mu$ M of SRT1720 or vehicle for 60 min and then stimulated by 30 ng/mL of FGF-2 or vehicle for 6 h. The expression of osteoprotegerin mRNA and GAPDH mRNA was quantified by real-time RT-PCR. The osteoprotegerin mRNA levels were normalized to those of GAPDH mRNA. Each value represents the mean  $\pm$  SEM of triplicate determinations from three independent cell preparations. \*  $p < 0.05$  compared to the value of control. \*\*  $p < 0.05$  compared to the value of FGF-2 alone.



#### 2.1.4. Effects of PD98059, SB203580, SP600125 or Akt Inhibitor on the FGF-2-Stimulated Osteoprotegerin Release in MC3T3-E1 Cells

In our previous studies [11–13], we have shown that FGF-2 stimulates the activation of the major three MAP kinases, p44/p42 MAP kinase, p38 MAP kinase and SAPK/JNK, in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. In addition, we recently reported that the FGF-2 stimulates the synthesis of VEGF through the Akt pathway in these cells [18]. Therefore, to investigate whether p44/p42 MAP kinase, p38 MAP kinase, SAPK/JNK or Akt are implicated in the FGF-2-induced osteoprotegerin synthesis in MC3T3-E1 cells, we examined the effects of PD98059, a specific inhibitor of the upstream kinase that activates p44/p42 MAP kinase [27], SB203580, a specific inhibitor of p38 MAP kinase [28], SP600125, a specific inhibitor of SAPK/JNK [29], or Akt inhibitor (1L-6-hydroxymethyl-chiro-inositol 2-(*R*)-2-*O*-methyl-3-*O*-octadecylcarbonate) [30] on the osteoprotegerin release stimulated by FGF-2. PD98059 failed to suppress the osteoprotegerin release with or without FGF-2. On the contrary, SB203580, SP600125 or Akt inhibitor significantly decreased the FGF-2-stimulated osteoprotegerin release, suggesting that p38 MAP kinase, SAPK/JNK and Akt are involved in the osteoprotegerin synthesis in MC3T3-E1 cells (Table 2).

**Table 2.** The effects of PD98059, SB203580, SP600125 or the Akt inhibitor on the FGF-2-stimulated osteoprotegerin release in MC3T3-E1 cells. The cultured cells were pretreated with 50  $\mu$ M of PD98059, 30  $\mu$ M of SB203580, 10  $\mu$ M of SP600125, 30  $\mu$ M of Akt inhibitor or vehicle for 60 min and then stimulated by 30 ng/mL of FGF-2 or vehicle for 48 h. Osteoprotegerin concentrations of the culture medium were determined by ELISA. Each value represents the mean  $\pm$  SEM of triplicate determinations from three independent cell preparations. \*  $p < 0.05$ , compared to the value of control. \*\*  $p < 0.05$ , compared to the value of FGF-2 alone.

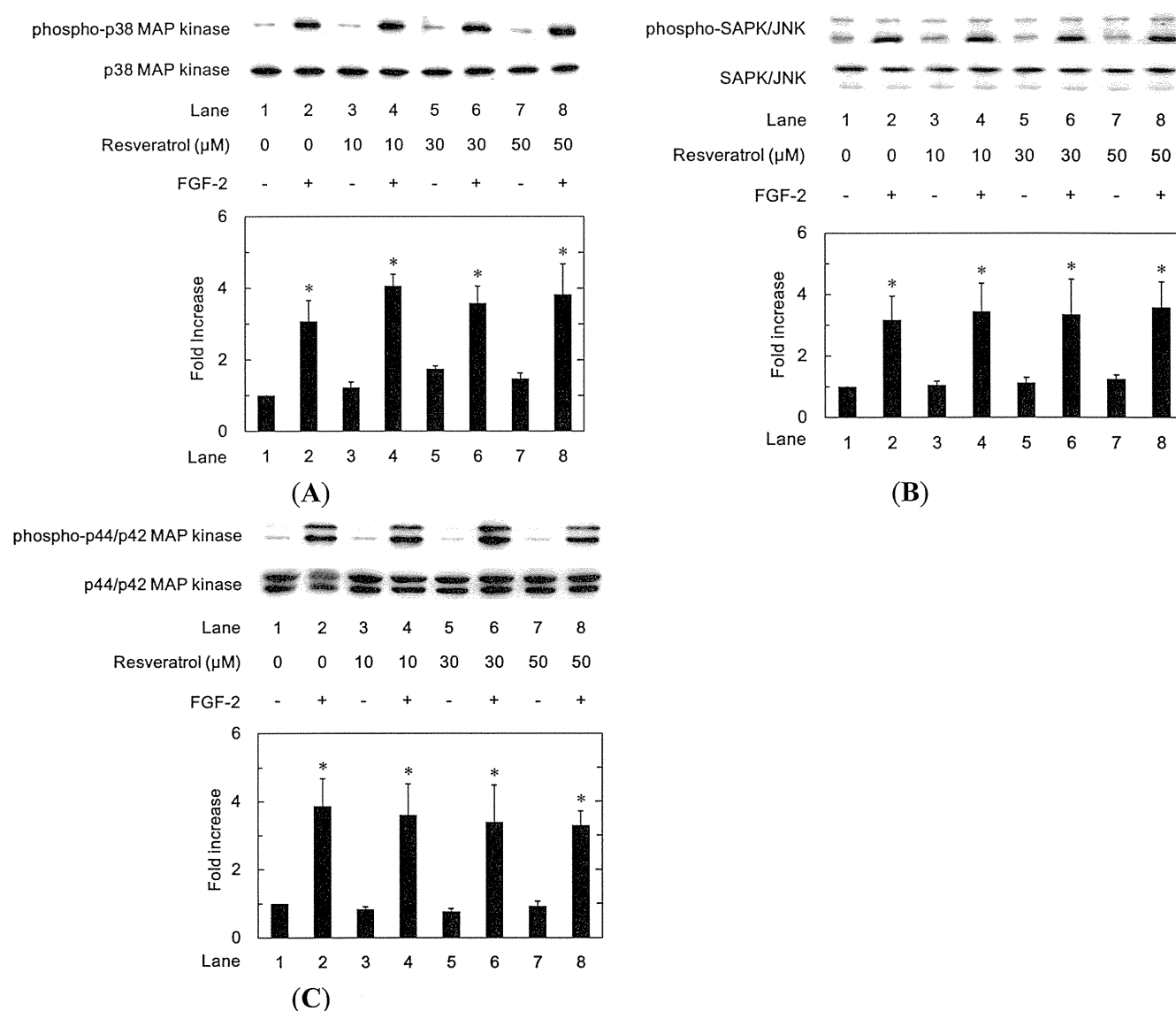
Inhibitors	FGF-2	Osteoprotegerin (pg/mL)
–	–	1,052 $\pm$ 52
–	+	2,143 $\pm$ 80 *
PD98059	–	1,088 $\pm$ 48
PD98059	+	2,791 $\pm$ 104
SB203580	–	609 $\pm$ 29
SB203580	+	1,005 $\pm$ 13 **
SP600125	–	879 $\pm$ 28
SP600125	+	986 $\pm$ 64 **
Akt inhibitor	–	693 $\pm$ 28
Akt inhibitor	+	986 $\pm$ 64 **

#### 2.1.5. Effects of Resveratrol on the FGF-2-Induced Phosphorylation of p44/p42 MAP Kinase, p38 MAP Kinase or SAPK/JNK in MC3T3-E1 Cells

In order to clarify whether resveratrol could modulate the activation of p38 MAP kinase or SAPK/JNK stimulated by FGF-2 or not, we examined the effect of resveratrol on the FGF-2-induced phosphorylation of p38 MAP kinase or SAPK/JNK in MC3T3-E1 cells. However, resveratrol failed to attenuate the FGF-2-induced phosphorylation of p38 MAP kinase (Figure 4A) or SAPK/JNK

(Figure 4B). Additionally, we found that resveratrol did not affect the p44/p42 MAP kinase phosphorylation stimulated by FGF-2 (Figure 4C).

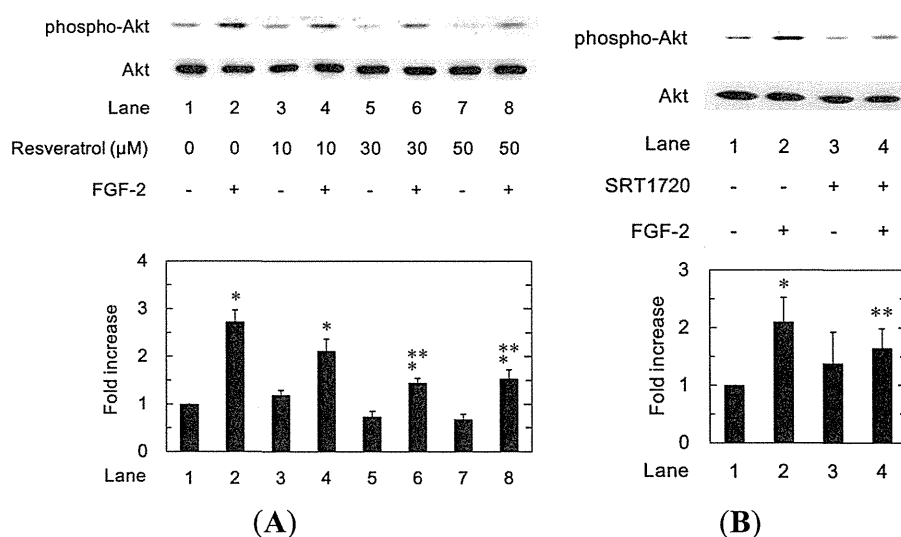
**Figure 4.** The effects of resveratrol on the FGF-2-induced phosphorylation of p38 MAP kinase (A), SAPK/JNK (B) or p44/p42 MAP kinase (C) in MC3T3-E1 cells. The cultured cells were pretreated with various doses of resveratrol for 60 min and then stimulated by 30 ng/mL of FGF-2 or vehicle for 10 min (A) or 20 min (B,C). The cell extracts were then subjected to SDS-PAGE with subsequent western blot analysis with antibodies against phospho-specific p38 MAP kinase, p38 MAP kinase, phospho-specific SAPK/JNK, SAPK/JNK, phospho-specific p44/p42 MAP kinase or p44/p42 MAP kinase. The histogram shows a quantitative representation of the levels of FGF-2-induced phosphorylation obtained from a laser densitometric analysis of three independent experiments. Each value represents the mean  $\pm$  SEM of triplicate determinations. \*  $p < 0.05$ , compared to the value of control.



### 2.1.6. Effects of Resveratrol or SRT1720 on the FGF-2-Induced Phosphorylation of Akt in MC3T3-E1 Cells

Furthermore, we next investigated the effect of resveratrol on the phosphorylation of Akt induced by FGF-2. Resveratrol significantly attenuated the FGF-2-induced phosphorylation of Akt in a dose-dependent manner in the range between 10 and 50  $\mu\text{M}$  in MC3T3-E1 cells (Figure 5A). In addition, we examined the effect of SRT1720 on the FGF-2-induced phosphorylation of Akt. SRT1720 significantly suppressed the FGF-2-induced phosphorylation of Akt (Figure 5B). SRT1720 mimicked the suppressive effect of resveratrol on the FGF-2-induced phosphorylation of Akt.

**Figure 5.** The effects of resveratrol (A) or SRT1720 (B) on the FGF-2-induced phosphorylation of Akt in MC3T3-E1 cells. The cultured cells were pretreated with various doses of resveratrol (A), 10  $\mu\text{M}$  of SRT1720 (B) or vehicle for 60 min and then stimulated by 30 ng/mL of FGF-2 or vehicle for 5 min. The cell extracts were then subjected to SDS-PAGE with subsequent western blot analysis with antibodies against phospho-specific Akt or Akt. The histogram shows quantitative representation of the levels of FGF-2-induced phosphorylation obtained from a laser densitometric analysis of three independent experiments. Each value represents the mean  $\pm$  SEM of triplicate determinations. \*  $p < 0.05$ , compared to the value of control. \*\*  $p < 0.05$ , compared to the value of FGF-2 alone.



## 2.2. Discussion

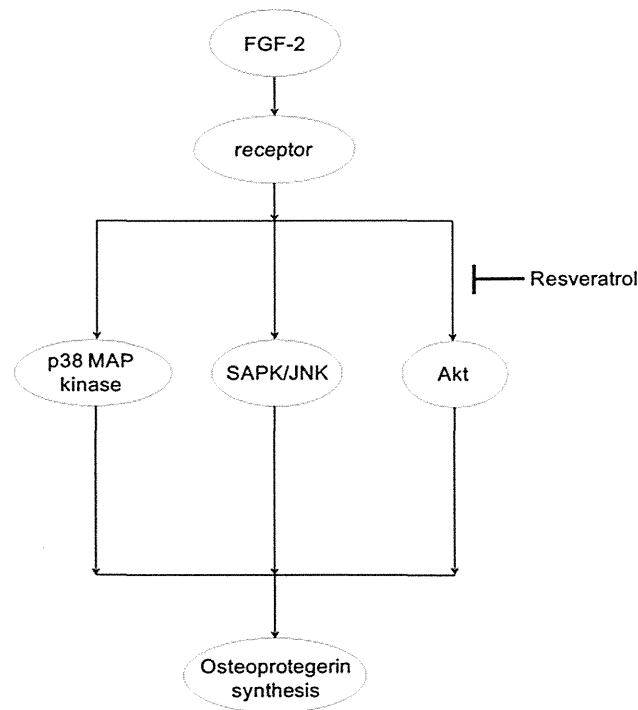
In the present study, we showed that resveratrol significantly reduced the FGF-2-stimulated osteoprotegerin release in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. In addition, we demonstrated that FGF-2 increased the levels of osteoprotegerin mRNA, and resveratrol reduced the mRNA expression levels of osteoprotegerin up-regulated by FGF-2. Taking our findings into account, it is most likely that the inhibitory effect of resveratrol on FGF-2-stimulated osteoprotegerin release were mediated through a transcriptional event. In co-cultures of spleen cells and osteoblasts, it has been reported that FGF-2 suppresses osteoprotegerin production [31]. The discrepancy may be due to the differences of experimental conditions. Therefore, we further investigated the exact mechanism behind the

resveratrol-effects on the FGF-2-stimulated osteoprotegerin synthesis in osteoblasts. It has been proposed that the effects of resveratrol are exerted through SIRT1 activation [32]. SIRT1 is an essential modulator of pathways downstream of caloric restriction that has beneficial effects on glucose homeostasis and insulin sensitivity [33]. SRT1720 is known to be a synthetic compound that has been identified for its ability to activate SIRT1 [26]. We showed that SRT1720 suppressed the FGF-2-induced osteoprotegerin release and expression of osteoprotegerin mRNA, as well as resveratrol in MC3T3-E1 cells. Thus, our findings suggest that the inhibitory effect of resveratrol on the FGF-2-stimulated osteoprotegerin synthesis is mediated at least in part by the activation of SIRT1 in osteoblast-like MC3T3-E1 cells.

The MAP kinase superfamily plays an essential role in a variety of cellular functions, including proliferation, differentiation and survival [34]. Among the MAP kinase superfamily, it is generally known that three MAP kinases, p44/p42 MAP kinase, p38 MAP kinase and SAPK/JNK, are central elements used by mammalian cells to transduce the diverse messages [35]. As for the intracellular signaling system of FGF-2 in osteoblasts, we have previously demonstrated that p44/p42 MAP kinase, p38 MAP kinase and SAPK/JNK are activated by FGF-2 in osteoblast-like MC3T3-E1 cells [11–13]. Additionally, we have reported that the Akt pathway plays a negative role in the FGF-2-stimulated VEGF release in these cells [18]. Therefore, we examined the effects of PD98059 [27], SB203580 [28], SP600125 [29] or Akt inhibitor [30] on the osteoprotegerin release induced by FGF-2 and showed that SB203580, SP600125 or the Akt inhibitor, but not PD98059, significantly reduced the FGF-2-stimulated osteoprotegerin release in MC3T3-E1 cells. Therefore, it is probable that p38 MAP kinase, SAPK/JNK and Akt act as positive regulators in the FGF-2-stimulated osteoprotegerin synthesis in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. In addition, we showed that resveratrol attenuated the FGF-2-induced phosphorylation of Akt, without affecting the FGF-2-induced phosphorylation of p38 MAP kinase or SAPK/JNK in these cells. We further found that resveratrol had little effect on the FGF-2 induced phosphorylation of p44/p42 MAP kinase. Therefore, these results strongly suggest that resveratrol affects the FGF-2-signaling in osteoprotegerin synthesis at a point upstream of Akt in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. In these cells, we have recently shown that resveratrol down-regulates prostaglandin D<sub>2</sub>-stimulated osteoprotegerin synthesis through inhibiting p38 MAP kinase and SAPK/JNK [36] and that the osteoprotegerin synthesis induced by prostaglandin F<sub>2α</sub> is attenuated by resveratrol through the suppression of p44/p42 MAP kinase, p38 MAP kinase and SAPK/JNK [37]. It is generally recognized that prostaglandin receptors belong to seven-transmembrane helical receptors, also known as G protein-coupled receptors, whereas FGF-2 receptors are tyrosine kinase-including single-span transmembrane receptors [38,39]. Therefore, it seems likely that the discrepancies between the present findings and these previous studies are due to the difference of receptor structure and the following signaling system. Furthermore, we demonstrated that SRT1720 reduced the FGF-2-induced phosphorylation of Akt, as well as resveratrol. Based on our findings as a whole, it is most likely that resveratrol suppresses the FGF-2-stimulated osteoprotegerin synthesis, at least in part by activation of SIRT1 in osteoblast-like MC3T3-E1 cells, and that the inhibitory effect of resveratrol is exerted at a point upstream of Akt. With regard to the mechanism of the SIRT1 effects, it has been reported that SIRT1-mediated deacetylation of Akt regulates its binding to phosphatidylinositol (3,4,5)-triphosphate and its activation [40]. Thus, it is possible that SIRT1 regulates Akt activity through the deacetylation in osteoblast-like MC3T3-E1

cells. The potential mechanism of resveratrol in FGF-2-stimulated osteoprotegerin synthesis in osteoblasts is summarized in Figure 6.

**Figure 6.** Schematic illustration of the regulatory mechanism of resveratrol on the FGF-2-induced osteoprotegerin synthesis in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. Resveratrol reduces FGF-2-induced osteoprotegerin synthesis by inhibiting the Akt pathway without affecting p38 MAP kinase or SAPK/JNK and functions at a point upstream of Akt.



FGF-2 is synthesized by osteoblasts and embedded into bone matrix in the process of bone remodeling [10]. During bone resorption by osteoclasts, the embedded FGF-2 is released and affects osteoblast precursors as a local osteogenic factor. The potent anabolic effects of FGF-2 on osteogenesis and bone fracture repair are firmly established [6,10]. On the other hand, osteoprotegerin, which has been identified as an osteoclastogenesis inhibitory factor, is known to function in the regulation of RANKL-mediated osteoclastic bone resorption, the initial step of bone remodeling [1]. To maintain the quality and quantity of bone, proper bone remodeling is required to remove old fragile skeleton and to renew the construction. Taking these findings into account, our present results showing the inhibitory effect of resveratrol on the FGF-2-stimulated osteoprotegerin synthesis by osteoblasts might provide its new aspect as an up-regulator of bone tissue quality through suppression of excessive bone turn over and the initiation of the adequate bone remodeling process. Further investigation would be necessary to clarify the detailed mechanism behind the effects of resveratrol on bone metabolism.

### 3. Experimental Section

#### 3.1. Materials

Recombinant human FGF-2 was obtained from Invitrogen BV., (Breda, Netherlands). Resveratrol, SRT1720, PD98059, SB203580, SP600125 and the Akt inhibitor (1L-6-hydroxymethyl-chiro-inositol

2-(*R*)-2-*O*-methyl-3-*O*-octadecylcarbonate) were obtained from Calbiochem-Novabiochem Co. (La Jolla, CA, USA). Mouse osteoprotegerin enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits were obtained from R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN, USA). Phospho-specific p44/p42 MAP kinase antibodies, p44/p42 MAP kinase antibodies, phospho-specific p38 MAP kinase antibodies, p38 MAP kinase antibodies, phospho-specific SAPK/JNK antibodies, SAPK/JNK antibodies, phospho-specific Akt antibodies (Thr308) and Akt antibodies were obtained from Cell Signaling Technology, Inc. (Beverly, MA, USA). An ECL western blotting detection system was obtained from GE Healthcare (Buckinghamshire, UK). Other materials and chemicals were obtained from commercial sources. Resveratrol, SRT1720, PD98059, SB203580, SP600125 and the Akt inhibitor were dissolved in dimethyl sulfoxide. The maximum concentration of dimethyl sulfoxide was 0.1%, which did not affect either the assay for osteoprotegerin or the western blot analysis.

### 3.2. Cell Culture

Cloned osteoblast-like MC3T3-E1 cells, which have been derived from newborn mouse calvaria [41], were maintained as previously described [42]. Briefly, the cells were cultured in  $\alpha$ -minimum essential medium ( $\alpha$ -MEM, SIGMA-ALDRICH, Co., St-Louis, MO, USA) containing 10% fetal bovine serum (FBS, PAA Laboratories GmbH, Pasching, Austria) at 37 °C in a humidified atmosphere of 5% CO<sub>2</sub>/95% air. The cells were seeded into 35 mm-diameter dishes ( $5 \times 10^4$  cells/dish) or 90 mm-diameter dishes ( $2 \times 10^5$  cells/dish) in  $\alpha$ -MEM containing 10% FBS. After five days, the medium was exchanged for  $\alpha$ -MEM containing 0.3% FBS. The cells were then used for experiments after 48 h.

### 3.3. Assay for Osteoprotegerin

The cultured cells were pretreated with various doses of resveratrol, SRT1720, PD98059, SB203580, SP600125 or the Akt inhibitor for 60 min, then stimulated by 30 ng/mL of FGF-2 or vehicle in 1 mL of  $\alpha$ -MEM containing 0.3% FBS and then incubated for the indicated periods. The conditioned medium was collected, and osteoprotegerin concentration in the medium was measured by a mouse osteoprotegerin ELISA kit according to the manufacturer's protocol.

### 3.4. Real-Time RT-PCR

The cultured cells were pretreated with 50  $\mu$ M of resveratrol, 10  $\mu$ M of SRT1720 or vehicle for 60 min and then stimulated by 30 ng/mL of FGF-2 or vehicle in  $\alpha$ -MEM containing 0.3% FBS for the indicated periods. Total RNA was isolated and transcribed into complementary DNA using the Trizol reagent (Invitrogen Co., Carlsbad, CA, USA) and the Omniscript Reverse Transcriptase Kit (QIAGEN Inc., Valencia, CA, USA), respectively. Real-time RT-PCR was performed using a Light Cycler system in capillaries with the Fast Start DNA Master SYBR Green I provided with the kit (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). Sense and antisense primers for mouse osteoprotegerin or glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) mRNA were purchased from Takara Bio Inc., (Tokyo, Japan) (primer set ID: MA026526). The amplified products were determined by a melting curve analysis and agarose electrophoresis. The osteoprotegerin mRNA levels were normalized to those of GAPDH mRNA.



### 3.5. Western Blot Analysis

The cultured cells were pretreated with various doses of resveratrol or SRT1720 for 60 min and were then stimulated by 30 ng/mL of FGF-2 or vehicle for the indicated periods. When indicated, the cells were washed twice with phosphate-buffered saline and then lysed, homogenized and sonicated in a lysis buffer containing 62.5 mM Tris/HCl, pH 6.8, 2% sodium dodecyl sulfate (SDS), 50 mM dithiothreitol and 10% glycerol. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) was performed by the method described by Laemmli [43] in 10% polyacrylamide gels. A western blot analysis was performed as described previously [44] by using phospho-specific p44/p42 MAP kinase antibodies, p44/p42 MAP kinase antibodies, phospho-specific p38 MAP kinase antibodies, p38 MAP kinase antibodies, phospho-specific SAPK/JNK antibodies, SAPK/JNK antibodies, phospho-specific Akt antibodies or Akt antibodies, with peroxidase-labeled antibodies raised in goat against rabbit IgG being used as secondary antibodies. The peroxidase activity on the polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane was visualized on X-ray films by means of an Enhanced chemiluminescence (ECL) western blotting detection system.

### 3.6. Densitometric Analysis

A densitometric analysis of the expression was performed using a scanner and an image analysis software program (ImageJ version 1.32, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA). The background-subtracted signal intensity of each phosphorylation signal was normalized to the respective total protein signal and plotted as the fold increase in comparison to control cells without stimulation.

### 3.7. Statistical Analysis

The data were analyzed by an ANOVA, followed by the Bonferroni method for multiple comparisons between pairs, and values of  $p < 0.05$  were considered to be statistically significant. All data are presented as the mean  $\pm$  SEM of triplicate determinations from three independent cell preparations.

## 4. Conclusions

In conclusion, our results strongly suggest that resveratrol suppresses FGF-2-stimulated osteoprotegerin synthesis through the down-regulation of the Akt pathway in osteoblasts and that the suppressing effect of resveratrol is mediated at least in part by SIRT1 activation.

## Acknowledgments

We are very grateful to Yumiko Kurokawa for her skillful technical assistance. This investigation was supported in part by Grant-in-Aid for Scientific Research (19591042) from the Ministry of Education, Science, Sports and Culture of Japan, the Foundation for Growth Science, and the Research Funding for Longevity Sciences (25-4) from National Center for Geriatrics and Gerontology (NCGG), Obu, Japan.

## Author Contributions

Gen Kuroyanagi and Haruhiko Tokuda conceived of the project and wrote the first draft. All authors contributed to the analysis and interpretations of data and to the writing subsequent drafts. All authors have seen and approved the final version of the manuscript.

## Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Karsenty, G.; Wagner, E.F. Reaching a genetic and molecular understanding of skeletal development. *Dev. Cell.* **2002**, *2*, 389–406.
2. Parfit, A.M. Targeted and nontargeted bone remodeling: Relationship to basic multicellular unit origination and progression. *Bone* **2002**, *30*, 5–7.
3. Simonet, W.S.; Lacey, D.L.; Dunstan, C.R.; Kelley, M.; Chang, M.S.; Lüthy, R.; Nguyen, H.Q.; Wooden, S.; Bennett, L.; Boone, T.; *et al.* Osteoprotegerin: A novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* **1997**, *89*, 309–319.
4. Mizuno, A.; Amizuka, N.; Irie, K.; Murakami, A.; Fujise, N.; Kanno, T.; Sato, Y.; Nakagawa, N.; Yasuda, H.; Mochizuki, S.; *et al.* Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998**, *247*, 610–615.
5. Kwan, T.S.; Padrines, M.; Théoleyre, S.; Heymann, D.; Fortun, Y. IL-6, RANKL, TNF- $\alpha$ /IL-1: Interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine Growth Factor Rev.* **2004**, *15*, 49–60.
6. Baylink, D.J.; Finkleman, R.D.; Mohan, S. Growth factor to stimulate bone formation. *J. Bone Miner. Res.* **1993**, *8*, 565–572.
7. Hurley, M.M.; Abreu, C.; Harrison, J.R.; Lichtler, A.C.; Raisz, L.G.; Kream, B.E. Basic fibroblast growth factor inhibits type I collagen gene expression in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 5588–5593.
8. Aguirre, J.I.; Leal, M.E.; Rivera, M.F.; Vanegas, S.M.; Jorgensen, M.; Wronski, T.J. Effects of basic fibroblast growth factor and a prostaglandin E2 receptor subtype 4 agonist on osteoblastogenesis and adipogenesis in aged ovariectomized rats. *J. Bone Miner. Res.* **2007**, *22*, 877–888.
9. Bolander, M.E. Regulation of fracture repair by growth factors. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1992**, *200*, 165–170.
10. Marie, P.J. Fibroblast growth factor signaling controlling osteoblast differentiation. *Gene* **2003**, *316*, 23–32.
11. Tokuda, H.; Kozawa, O.; Uematsu, T. Basic fibroblast growth factor stimulates vascular endothelial growth factor release in osteoblasts: Divergent regulation by p44/p42 mitogen-activated protein kinase and p38 mitogen-activated protein kinase. *J. Bone Miner. Res.* **2003**, *15*, 2371–2379.
12. Tokuda, H.; Hirade, K.; Wang, X.; Oiso, Y.; Kozawa, O. Involvement of SAPK/JNK in basic fibroblast growth factor-induced VEGF release in osteoblasts. *J. Endocrinol.* **2003**, *177*, 101–107.

13. Kozawa, O.; Tokuda, H.; Matsuno, H.; Uematsu, T. Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase in basic fibroblast growth factor-induced interleukin-6 synthesis in osteoblasts. *J. Cell. Biochem.* **1999**, *74*, 479–485.
14. Chan, T.O.; Rittenhouse, S.E.; Tschlis, P.N. AKT/PKB and other D3 phosphoinositide-regulated kinases: Kinase activation by phosphoinositide-dependent phosphorylation. *Annu. Rev. Biochem.* **1999**, *68*, 965–1014.
15. Cantley, L.C. The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science* **2002**, *296*, 1655–1657.
16. Chaudhary, L.R.; Hruska, K.A. The cell survival signal Akt is differently activated by PDGF-BB, EGF, and FGF-2 in osteoblastic cells. *J. Cell. Biochem.* **2001**, *81*, 304–311.
17. Debais, F.; Lefevre, G.; Lemonnier, J.; Le Mee, S.; Lasmoles, F. Fibroblast growth factor-2 induces osteoblast survival through a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent- $\beta$ -catenin-independent signaling pathway. *Exp. Cell Res.* **2004**, *297*, 235–246.
18. Takai, S.; Tokuda, H.; Hanai, Y.; Kozawa, O. Activation of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt limits FGF-2-induced VEGF release in osteoblasts. *Mol. Cell. Endocrinol.* **2007**, *267*, 46–54.
19. Jankun, J.; Selman, S.H.; Wiercz, R.S.; Skrzypczak-Jankun, E. Why drinking green tea could prevent cancer. *Nature* **1997**, *387*, 561.
20. Harbourne, J.B.; Williams, C.A. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry* **2000**, *55*, 481–504.
21. Blander, G.; Guarente, L. The Sir2 family of protein deacetylases. *Annu. Rev. Biochem.* **2004**, *73*, 417–435.
22. Koo, S.H.; Montminy, M. In vino veritas: A tale of two Sirt1s? *Cell* **2006**, *127*, 1091–1093.
23. Renaud, S.; de Lorgeril, M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* **1992**, *339*, 1523–1526.
24. Kubo, J.T.; Stefanick, M.L.; Robbins, J.; Wactawski-Wende, J.; Cullen, M.R.; Freiberg, M.; Desai, M. Preference for wine is associated with lower hip fracture incidence in post-menopausal women. *BMC Womens Health* **2013**, *13*, 36.
25. Baur, J.A.; Pearson, K.J.; Price, N.L.; Jamieson, H.A.; Lerin, C.; Kalra, A.; Allard, V.V.; Prabhu, J.S.; Lopez-Lluch, G.; Lewis, K.; *et al.* Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* **2006**, *444*, 337–342.
26. Milne, J.C.; Lambert, P.D.; Schenk, S.; Carney, D.P.; Smith, J.J.; Gagne, D.J.; Jin, L.; Boss, O.; Perni, R.B.; Vu, C.B.; *et al.* Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes. *Nature* **2007**, *450*, 712–716.
27. Alessi, D.R.; Cuenda, A.; Cohen, P.; Dudley, D.T.; Saltiel, A.R. PD 098059 is a specific inhibitor of the activation of mitogen-activated protein kinase kinase *in vitro* and *in vivo*. *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 27489–27494.
28. Cuenda, A.; Rouse, J.; Doza, Y.N.; Meier, R.; Cohen, P.; Gallagher, T.F.; Young, P.R.; Lee, J.C. SB 203580 is a specific inhibitor of a MAP kinase homologue which is stimulated by cellular stresses and interleukin-1. *FEBS Lett.* **1995**, *364*, 229–233.
29. Bennett, B.L.; Sasaki, D.T.; Murray, B.W.; O’Leary, E.C.; Sakata, S.T.; Xu, W.; Leisten, J.C.; Motiwala, A.; Pierce, S.; Satoh, Y.; *et al.* SP600125, an anthrapyrazolone inhibitor of Jun N-terminal kinase. *Gene* **2001**, *98*, 13681–13686.

30. Hu, Y.; Qiao, L.; Wang, S.; Rong, S.B.; Meuillet, E.J.; Berggren, M.; Gallegos, A.; Powis, G.; Kozikowski, A.P. 3-(Hydroxymethyl)-bearing phosphatidylinositol ether lipid analogues and carbonate surrogates block PI3-K, Akt, and cancer cell growth. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3045–3051.
31. Nakagawa, N.; Yasuda, H.; Yano, K.; Mochizuki, Si.; Kobayashi, N.; Fujimoto, H.; Shima, N.; Morinaga, T.; Chikazu, D.; Kawaguchi, H.; *et al.* Basic fibroblast growth factor induces osteoclast formation by reciprocally regulating the production of osteoclast differentiation factor and osteoclastogenesis inhibitory factor in mouse osteoblastic cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1999**, *265*, 158–163.
32. Boily, G.; He, X.H.; Pearce, B.; Jardine, K.; McBurney, M.W. SirT1-null mice develop tumors at normal rates but are poorly protected by resveratrol. *Oncogene* **2009**, *28*, 2882–2893.
33. Guarente, L.; Picard, F. Calorie restriction-the SIR2 connection. *Cell* **2005**, *120*, 473–482.
34. Kyriakis, J.M.; Avruch, J. Mammalian mitogen-activated protein kinase signal transduction pathways activated by stress and inflammation. *Physiol. Rev.* **2001**, *81*, 807–869.
35. Widmann, C.; Gibson, S.; Jarpe, M.B.; Johnson, G.L. Mitogen-activated protein kinase: Conservation of a three-kinase module from yeast to human. *Physiol. Rev.* **1999**, *79*, 143–180.
36. Kuroyanagi, G.; Mizutani, J.; Kondo, A.; Yamamoto, N.; Matsushima-Nishiwaki, R.; Otsuka, T.; Kozawa, O.; Tokuda, H. Suppression by resveratrol of prostaglandin D<sub>2</sub>-stimulated osteoprotegerin synthesis in osteoblasts. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* **2014**, *91*, 73–80.
37. Kuroyanagi, G.; Tokuda, H.; Matsushima-Nishiwaki, R.; Kondo, A.; Mizutani, J.; Kozawa, O.; Otsuka, T. Resveratrol suppresses prostaglandin F<sub>2α</sub>-induced osteoprotegerin synthesis in osteoblasts: Inhibition of the MAP kinase signaling. *Arch. Biochem. Biophys.* **2014**, *542*, 39–45.
38. Narumiya, S.; Sugimoto, Y.; Ushikubi, F. Prostanoid receptors: Structures, properties, and functions. *Physiol. Rev.* **1999**, *79*, 1193–1226.
39. Eswarakumar, V.P.; Lax, I.; Schlessinger, J. Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.* **2005**, *16*, 139–149.
40. Pillai, V.B.; Sundaresan, N.R.; Gupta, M.P. Regulation of Akt signaling by sirtuins: Its implication in cardiac hypertrophy and aging. *Circ. Res.* **2014**, *114*, 368–378.
41. Sudo, H.; Kodama, H.; Amagai, Y.; Yamamoto, S.; Kasai, S. In vitro differentiation and calcification in a new clonal osteogenic cell line derived from newborn mouse calvaria. *J. Cell Biol.* **1983**, *96*, 191–198.
42. Kozawa, O.; Tokuda, H.; Miwa, M.; Kotoyori, J.; Oiso, Y. Cross-talk regulation between cyclic AMP production and phosphoinositide hydrolysis induced by prostaglandin E<sub>2</sub> in osteoblast-like cells. *Exp. Cell Res.* **1992**, *198*, 130–134.
43. Laemmli, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **1970**, *227*, 680–685.
44. Kato, K.; Ito, H.; Hasegawa, K.; Inaguma, Y.; Kozawa, O.; Asano, T. Modulation of the stress-induced synthesis of hsp27 and αB-crystallin by cyclic AMP in C6 rat glioma cells. *J. Neurochem.* **1996**, *66*, 946–950.

## 高齡者におけるリハビリテーションの意義

# 高齡者におけるリハビリテーションの阻害因子とそれに対する一般的対応

## 6. 糖尿病

谷川隆久 徳田治彦

国立長寿医療研究センター内分泌代謝内科

### はじめに

加齢とともに身体活動量の低下、内臓脂肪の蓄積、筋肉量の低下からインスリン抵抗性が生じ、インスリン初期分泌低下から食後血糖が上昇し、耐糖能異常が生じてくる。高齡者糖尿病の頻度は増加し、65歳以上では約6人に1人が糖尿病である。高齡者糖尿病は高齡発症の軽症なものから、長期の罹病期間により細小血管障害を有する場合、動脈硬化性血管障害を有する場合、加齢に伴う老年症候群を有する場合など多様である。これらが複雑に関連し合い、糖尿病療養に必要なセルフケア障害が起きるため、総合的な判断に基づく個別対応が求められる。

### 高齡者糖尿病と老年症候群

高齡者は既往疾患による障害や生理機能の低下により、認知機能低下、activity of daily living(ADL)の低下、転倒、うつ病、サルコペニア、難聴、尿失禁などのいわゆる老年症候群を来す。

高齡者糖尿病患者は糖尿病でない人と比べて約2倍、老年症候群を合併しやすく、要介護や死亡のリスクが高まる<sup>1)</sup>。

### 1. 高齡者糖尿病と認知症

糖尿病では認知機能低下を来しやすいが、糖尿病でない人と比べてアルツハイマー病は1.5倍、血管性認知症は2.5倍、認知症全体は1.5倍に増える<sup>2)</sup>。糖尿病では言語性記憶力障害とともに処理スピードの障害、注意力や精神運動機能障害を伴うことが多い<sup>3)</sup>。HbA1cが1%増加するごとに認知機能障害のリスクが約1.5倍高まるとされる。

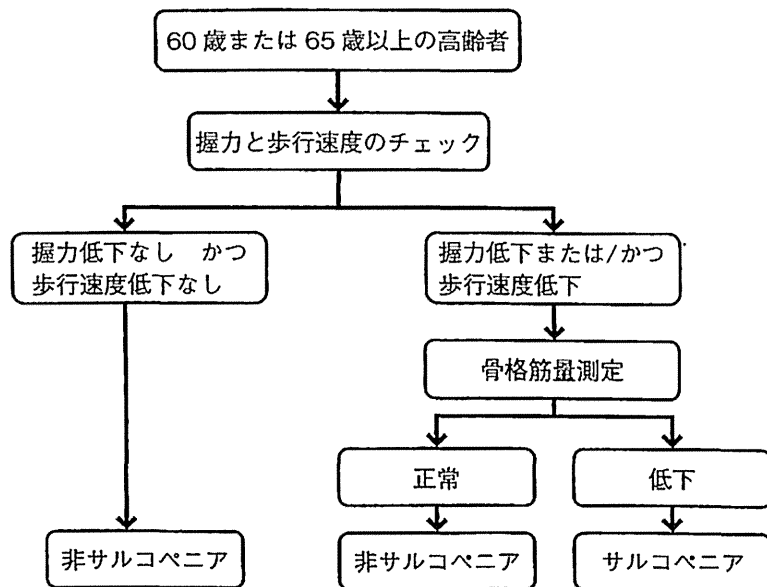
### 2. 高齡者糖尿病と転倒

高齡者糖尿病患者はそうでない人と比べて約1.4~4倍転倒しやすい。筋肉量および筋力の低下、バランス障害や歩行速度の低下を来しやすく、また脳梗塞などの大血管障害、網膜症などの細小血管障害もリスクとなる。

### 3. 高齡者糖尿病とうつ

高齡者の抑うつ状態は悲哀や抑うつ的な気分が前面に出ず、強い不安、意欲や活動性の低下が目立ち、身体的な訴えが増える。

糖尿病によってうつ病のリスクは2倍に上がるとされる<sup>4)</sup>。うつ病の合併で服薬、インスリン注射、食事療法、運動療法へのアドヒアランスが不良になり、過食あるいは食欲低下を来す



握力のカットオフ値：男性<26 kg, 女性<18 kg  
 歩行速度のカットオフ値： $\leq 0.8$  m/sec  
 骨格筋量：男性<7.0 kg/m<sup>2</sup>, 女性<5.7 kg/m<sup>2</sup>(インピーダンス法)  
 男性<7.0 kg/m<sup>2</sup>, 女性<5.4 kg/m<sup>2</sup>(DEXA)

図1 サルコペニアの診断(文献6より改変引用)

こともある。糖尿病とうつ病は相互に関連することが知られている。糖尿病の治療、合併症がうつ病の引き金になることもあれば、うつ病では副腎皮質系のホルモンであるコルチゾールの分泌や交感神経が亢進しており、これらはインスリン抵抗性を増大させ、血糖を上昇させる。このようにお互いが増悪因子となって悪循環が生じると考えられている。

#### 4. 高齢者糖尿病とサルコペニア

骨格筋量は加齢に伴い低下し、身体機能の低下を招く。このような筋肉量の低下はサルコペニアと呼ばれる。2010年に European Working Group on Sarcopenia in Older People (EW-COSOP)は①筋肉量の低下②筋力の低下③身体能力の低下を挙げ、①を必須として②または③のいずれかあるいは双方伴うものをサルコペニアと診断するとした。骨格筋量は二重エネルギーX線吸収測定法(DEXA)やインピーダンス法で、筋力は握力、身体機能は歩行速度で評価することを提唱している<sup>5)</sup>。2014年には Asian Working Group for Sarcopenia (AWGS)により、アジア人のサルコペニア診断のコンセ

ンサスが発表され、個々のカットオフ値についてアジア人固有のものを示している(図1)<sup>6)</sup>。骨格筋量の減少はインスリンによるグルコース処理能力を低下させ、インスリン抵抗性を増す。サルコペニアを予防するためには、蛋白合成低下の抑制、蛋白質、アミノ酸の十分な摂取およびレジスタンス運動が必要である。

#### 5. 低血糖

高齢者は食欲低下、不規則な食事、腎機能低下などから低血糖を来しやすい。高齢者の低血糖は認知機能低下を起こしやすくする。

低血糖は高血糖と同様に注意力障害を伴う認知機能低下を起こす。低血糖は認知症の危険因子であるとともに、認知機能低下の合併は重症低血糖のリスクとなる<sup>7)</sup>。また、HbA1c低値、低血糖が多いと転倒しやすくなる。インスリン治療により、HbA1cが6%以下の高齢者は転倒リスクが高くなる<sup>8)</sup>といわれており、われわれも加齢と低血糖が転倒の主要なリスクファクターであることを明らかにしている<sup>9)</sup>。

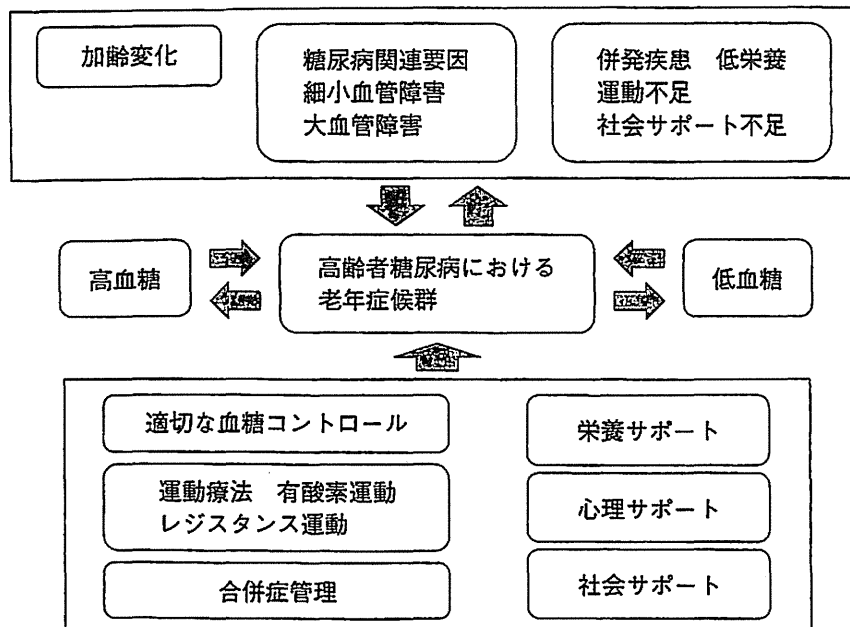


図2 糖尿病での老年症候群の成因と対策(文献1, 10より改変引用)

## 高齢者糖尿病における老年症候群の対策

老年症候群は生理機能の低下により、筋肉量の低下、内臓脂肪の増加、インスリン抵抗性の増加、中枢、末梢神経機能低下、腎機能低下を背景に運動不足、低栄養、社会サポート不足が重なって起きるが、糖尿病では血糖コントロール、細小血管障害、大血管障害などの影響が加わって起こりやすくなると考えられる。患者の様々な状況を把握するために、総合評価(comprehensive geriatric assessment: CGA)を行い、①適切な血糖コントロール②筋力トレーニングを含んだ運動療法③栄養サポート④心理的サポート⑤社会的サポートを多職種間で協力しながら行っていく必要がある(図2)<sup>1,10)</sup>。

## 高齢者糖尿病の運動療法

高齢者糖尿病にとって運動療法は血糖を下げるだけでなく、インスリン抵抗性の改善、内臓脂肪の減少を介して動脈硬化を予防、骨粗鬆症、サルコペニアを予防し、ADLを維持し、精神状態を安定させ、うつや認知症を予防する効果があるとされている。

有酸素運動はインスリン抵抗性改善に有用であるが、筋力、筋肉量の低下している高齢者では有酸素運動のみでは改善効果が出にくく、レジスタンス運動との併用が有用である(図3)<sup>11)</sup>。また、関節可動域の維持、向上のため、ストレッチや転倒予防効果のあるバランストレーニングもすすめられる。

運動開始前には心疾患、関節疾患の有無といったメディカルチェックを行い、問題のある人は監視下で行い、多職種間において併発疾患の情報共有が重要である。運動前後の水分補給、低血糖防止のためのブドウ糖携帯を指導することも大切である。

## 高齢者糖尿病における血糖管理目標

日本人では糖尿病患者は男女ともに約10年短命である。良好な血糖コントロールを長期間にわたって維持し、健常人と同様の生活の質を保ち、寿命を全うさせることが糖尿病の治療目標である。United Kingdom prospective diabetes study(UKPADS)の結果に基づき、Huangらは通常血糖コントロール群(HbA1c<7.9%)と厳格治療群(HbA1c<7.0%)で予想される平均

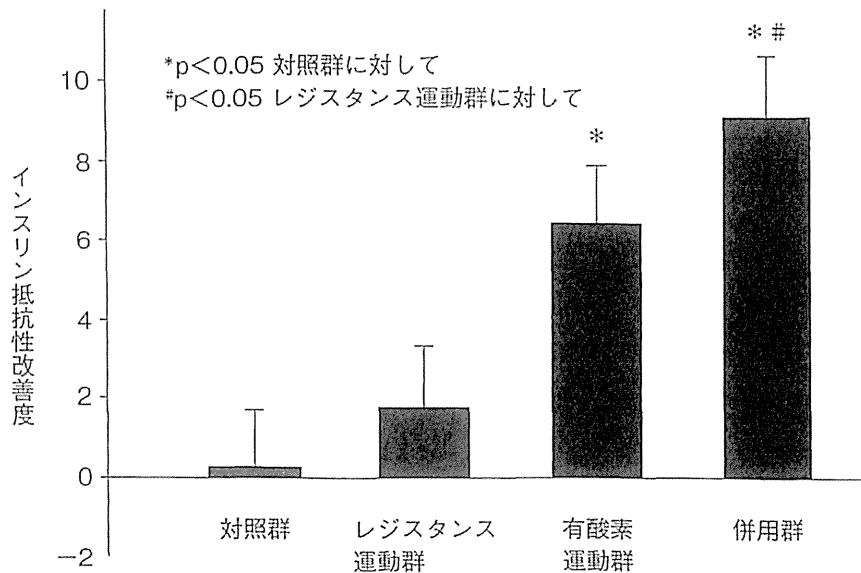


図3 トレーニング法の違いによるインスリン抵抗性改善度の違い(文献11より改変引用)

表1 高齢者糖尿病の治療目標

米国糖尿病学会(2012)		
認知機能や身体機能低下のない健常高齢者	複数の併発疾患 or 軽度から中等度の認知症 or 2個以上の IADL 低下がある	長期療養の施設入所 or 終末期の慢性疾患 or 中等度から重度の認知症 or 2個以上の ADL 低下がある
HbA1c<7.5%	HbA1c<8.0%	HbA1c<8.5%
空腹時または食前血糖 90~130 mg/dL	空腹時または食前血糖 90~150 mg/dL	空腹時または食前血糖 100~180 mg/dL
眠前血糖 90~150 mg/dL	眠前血糖 100~180 mg/dL	眠前血糖 110~200 mg/dL

熊本宣言(2013)			
目標	血糖正常化をめざす際の目標	合併症予防のための目標	治療強化が困難な際の目標
HbA1c(%)	6.0 未満	7.0 未満	8.0 未満

余命の差を計算したが、後期高齢者では厳格治療群による余命延長効果が短縮しており、併発疾患、生活機能障害が高度であるとその効果はさらに短縮する<sup>12)</sup>。つまり、高齢者では、年齢、合併疾患、生活障害から余命を考えた血糖管理に留意する必要がある。

Japanese Elderly Diabetes Intervention Trial(J-EDIT)ではHbA1c高値(≥8.8%)群では脳卒中および糖尿病関連全イベントが増加していたが、HbA1c低値(≤7.2%)群では7.3~7.8%

群、7.9~8.7%群よりも脳卒中を高頻度に認められた<sup>13)</sup>。また、血糖と認知症のリスクを調べた研究ではHbA1c 7.2~7.6%でリスクが最も低く、7.2%未満や7.9%以上では増加していた<sup>14)</sup>。

海外の高齢者糖尿病ガイドラインが種々挙げられているが、共通していることは、個別に血糖管理目標を設定すること、機能障害のない高齢者とフレイルである患者を分けて血糖管理目標を設定することである。例えば、米国糖尿病学会のコンセンサス報告では予想される平均余



命から3段階に分け、認知機能や身体機能が正常で健康な高齢者はHbA1c 7.5%未満、複数の併発疾患または軽度から中等度の認知機能低下または2個以上のinstrumental ADL(IADL)低下のあるものはHbA1c 8.0%未満、長期療養の介護施設の入所者、終末期慢性疾患、中度から重症の認知症、2個以上のADL低下の患者はHbA1c 8.5%未満としている<sup>19)</sup>(表1)。日本でも2013年に熊本宣言が提唱された。高齢者の目標宣言ではないが、海外のガイドラインの考え方と照らし合わせると、低血糖リスクの高い患者やそのほかの理由で治療強化の難しい場合はHbA1c 8.0%未満が目標値となり、健常高齢者は7.0%未満となる(表1)。高齢者糖尿病では低すぎず、高すぎず緩やかなコントロールが必要であると考えられる。

## おわりに

高齢者糖尿病は多様であり、老年症候群の合併も多く、個別の目標設定、対応が要求されている。これらの変化に対応するには患者を総合的に評価し、介入する必要があり医師、看護師、栄養士、リハビリスタッフ、薬剤師、臨床検査技師などの多職種が情報を交換しながらチーム医療を行っていく必要がある。

## 文 献

- 1) Araki A and Ito H : Diabetes mellitus and geriatric syndromes. *Geriatr Gerontol Int* 2009 ; 9 : 105-114.
- 2) Cheng G et al : Diabetes as a risk factor for dementia and mild cognitive impairment : a meta-analysis of longitudinal studies. *Intern Med J* 2012 ; 42 : 484-491.
- 3) 梅垣宏行 : 糖尿病患者の神経心理学的異常. *月刊糖尿病* 2012 ; 4 : 57-64.
- 4) Anderson RJ et al : The prevalence of comorbid depression in adults with diabetes : a meta-analysis. *Diabetes Care* 2001 ; 24 : 1069-1078.
- 5) Cruz-Jentoft AJ et al : European Working Group on Sarcopenia in Older People : Sarcopenia : European consensus on definition and diagnosis : Report of the European Working Group on Sarcopenia in Older People. *Age Ageing* 2010 ; 39 : 412-423.
- 6) Chen LK et al : Sarcopenia in Asia : consensus report of the Asian Working Group for Sarcopenia. *J Am Med Dir Assoc* 2014 ; 15 : 95-101.
- 7) Yaffe K et al : Health ABC Study : Association between hypoglycemia and dementia in a biracial cohort of older adults with diabetes mellitus. *JAMA Intern Med* 2013 ; 173 : 1300-1306.
- 8) Nelson JM et al : The relationship between glycemic control and falls in older adults. *J Am Geriatr Soc* 2007 ; 55 : 2041-2044.
- 9) サブレ森田さゆりほか : 転倒歴のある高齢者糖尿病患者の転倒要因の検討. *日本転倒予防学会* 2014 ; 1 : 37-43.
- 10) 荒木 厚 : 糖尿病患者の老年症候群. *糖尿病* 2014 ; 57 : 676-678.
- 11) Davidson LE et al : Effects of exercise modality on insulin resistance and functional limitation in older adults : a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 2009 ; 169 : 122-131.
- 12) Huang ES et al : The effect of comorbid illness and functional status on the expected benefits of intensive glucose control in older patients with type 2 diabetes : a decision analysis. *Ann Intern Med* 2008 ; 149 : 11-19.
- 13) Araki A et al : Japanese Elderly Intervention Trial Research Group : Non-high-density lipoprotein cholesterol : an important predictor of stroke and diabetes-related mortality in Japanese elderly diabetic patients. *Geriatr Gerontol Int* 2012 ; 12(Suppl 1) : 18-28.
- 14) Crane PK et al : Glucose levels and risk of dementia. *N Engl J Med* 2013 ; 369 : 1863-1864.
- 15) Sinclair AJ et al : European Diabetes Working Party for Older People : European Diabetes Working Party for Older People 2011 clinical guidelines for type 2 diabetes mellitus. Executive summary. *Diabetes Metab* 2011 ; 37 (Suppl 3) : S27-S38.

## 原 著

## 転倒歴のある高齢糖尿病患者の転倒要因の検討

サブレ森田 さゆり<sup>1)</sup> 高梨 早苗<sup>1)</sup> 嶋田 佳代子<sup>1)</sup> 川嶋 修司<sup>2)</sup>  
 細井 孝之<sup>3)</sup> 櫻井 孝<sup>4)</sup> 徳田 治彦<sup>5)</sup> 原田 敦<sup>6)</sup>

- 1) 国立長寿医療研究センター看護部  
 2) 国立長寿医療研究センター内分泌・代謝内科、高齢者総合診療科  
 3) 医療法人財団健康院健康院クリニック  
 4) 国立長寿医療研究センターもの忘れセンター  
 5) 国立長寿医療研究センター臨床検査部  
 6) 国立長寿医療研究センター

## 要 約

【目的】 高齢糖尿病患者における転倒要因を検討する。

【方法】 対象者は、糖尿病外来に通院する65歳以上の高齢糖尿病患者300名である。転倒予測スコア (Fall risk index : FRI) 21項目と厚生労働省が高齢者の介護予防のために提案している基本チェックリスト (Kihon check list : KCL) 21項目を用い、KCL総合点に基づいて虚弱判定 (虚弱あり : KCL8以上, 虚弱なし : KCL0-7) を行った。転倒の有無による2群間の臨床項目の差異は Mann-Whitney U test で解析し、転倒の有無と糖尿病関連項目との関連性はロジスティック回帰分析で検討した。

【結果】 全対象者300名のうち、転倒あり群は94名、転倒なし群は206名であった。転倒群では、高齢で低身長、網膜症・腎症の合併が多く、低血糖の頻度が高く、認知症と虚弱の合併が多く、糖尿病罹患歴が長期であり、HbA1c高値、eGFR低値、Mini-Mental State Examinationの成績が悪かった。多重ロジスティック回帰分析で、転倒と有意な関連性がある項目として、年齢と低血糖が抽出された。

【考察】 高齢糖尿病患者においては、低血糖の回避が転倒事故の防止に重要であると考えられた。

【結論】 高齢糖尿病患者においては、加齢と低血糖が転倒との関連要因であった。

## キーワード

転倒, 虚弱, 糖尿病, 転倒スコア, 基本チェックリスト

## I 緒言

高齢者の糖尿病は、糖尿病がない人に比べ転倒しやすく、転倒の危険因子を多く有している。糖尿病患者の高血糖と低血糖は、転倒に影響を及ぼすといわれている。

2010年度の国民生活基礎調査では<sup>1)</sup>、介護が必要になった原因を年齢階層別 (65～74歳, 75～84歳, 85歳以上) に調査している。65～74歳の前期高齢者、特に男性では、脳血管疾患による者の割合が多い。しかし、75～84歳, 85歳以上の群になると脳血管障害による割合は低下し、「認知症」「骨折・転倒」「高齢による

衰弱」を原因とする割合が増加している。特に85歳以上の群においては、「高齢による衰弱」が男女とも多く、男性で23.8%, 女性で24.8%に及ぶ。フレイル (虚弱) の定義は、いまだ定まっていないが加齢に伴う複数の要因により、心身の機能が低下した状態と考えられる。基本チェックリスト (Kihon check list : KCL) は、介護予防プログラムのために作成されたチェックリストである。KCL総合得点は、Cardiovascular Health Study (CHS) に基づく虚弱項目数と強い関連を示すことから、虚弱の評価候補となる可能性が提唱されている<sup>2) 3)</sup>。

連絡先：独立行政法人国立長寿医療研究センター看護部

〒474-8511 愛知県大府市森岡町源吾 35

TEL : 0562-46-2311 FAX : 0562-48-2373 e-mail : mme.sayu@ncgg.go.jp

受付日 : 2014.2.28 受理日 : 2014.5.5

一方、2012年の国民健康・栄養調査でヘモグロビンA1c (HbA1c) の値が6.1%以上、または、質問紙において「現在糖尿病の治療を受けている」と答えた糖尿病が強く疑われる人や、HbA1cの値が5.6%以上、6.1%未満の糖尿病予備軍が合わせて2,050万人と推計された。近年、糖尿病が強く疑われる人の割合は、増加している<sup>4)</sup>。

70歳以上の高齢者において、男性では23.2%、女性では16.7%の割合で糖尿病が強く疑われる。高齢糖尿病患者の臨床像は多様であり、日常生活動作 (Activity of daily living: ADL) が自立した元気な高齢者から、寝たきり高齢者まで幅が広い。また糖尿病の罹患期間、血糖管理、血管合併症、合併する老年症候群もさまざまであり、治療においては個別の管理目標値を設定することが推奨されている。

高齢糖尿病患者においても管理が求められるため、生命予後のみならず、生活機能を考えた治療が求められる。この点に関して、転倒は自立を損なう主要な原因であり、糖尿病における転倒関連因子を明らかにすることは重要であると考えられる。これまで、神経障害のある糖尿病患者は、バランス障害、起立性低血圧、下肢筋力の低下をきたし、姿勢・歩行障害をきたすことが知られている<sup>5)</sup>。また糖尿病性網膜症による神経障害も転倒の原因となる。糖尿病患者の転倒と低血糖の関連について、荒木らは、低血糖の減少とともに、転倒・骨折の頻度、転倒スコア (Fall risk index: FRI) が減少していたことを報告している<sup>6) 7)</sup>。しかしながら、65歳以上の糖尿病患者を対象者とした、包括的な転倒要因の解析は知り得た限りみられなかった。そこで我々は、高齢糖尿病患者における転倒要因の検討を目的として本研究を行った。

## II 方法

### 1. 対象

対象は、国立長寿医療研究センター・糖尿病外来に通院し (2012年6月～9月)、研究参加への同意が得られた、65歳以上の高齢糖尿病患者300名 (男性149名女性151名) である。介護保険サービスを利用しているものは、除外した。

### 2. 基本チェックリスト (KCL) による虚弱的判定基準

KCLは、厚生労働省の特定高齢者把握事業において、①特定高齢者となる可能性がある「特定高齢者」を選定し、②特定高齢者が参加する介護予防プログラムの判定のために作成した。平成18年より、全国の地域包括支援センターで運用されており、運動・転倒 (5項目)、

手段的日常生活動作能 (3項目)、認知症 (3項目)、うつ (5項目)、低栄養状態 (2項目)、口腔機能 (3項目)、社会的ADL (4項目) の計25項目より構成される。

虚弱評価として国際的に使用されているFriedらの基準と総合得点 (#1～#25) の関連性について、KCLの該当項目数は、CHS基準の項目数と有意に相関すること、またKCL8点以上を虚弱のカットオフ値にした際、Friedらの基準による虚弱とよく一致することが報告されている (感度0.88、特異度0.85)<sup>2) 3)</sup>。そこで、KCLの総合得点に基づく虚弱判定 (虚弱あり: KCL8点以上、虚弱なし: KCL0～7点) を行った。

### 3. 調査項目

1) 患者背景: 年齢、性別、身長、体重、BMI (Body Mass Index)、収縮期血圧、拡張期血圧、虚血性心疾患の有無、うつ病の有無、認知症の有無、骨粗鬆症の有無、Mini-Mental State Examination (MMSE) の成績を診療記録から得た。鳥羽ら<sup>8)</sup>が開発した自記式の転倒リスク評価である、身体能力 (8項目)、老年症候群 (8項目)、環境因子 (5項目) の21項目の質問紙からなるFRIとKCL25項目を実施した。

2) 糖尿病関連項目: 糖尿病罹患歴、治療法 (運動・食事療法のみ、経口糖尿病薬の使用、インスリン治療、インスリン治療と経口糖尿病薬の併用)、糖尿病最小血管障害、HbA1c値、糸球体ろ過量推算値 (estimated glomerular filtration rate: eGFR)、低血糖について調査した。糖尿病性網膜症、腎症は「糖尿病療養指導の手引<sup>9)</sup>」に従い分類した。糖尿病性神経障害は、アキレス腱反射の低下、神経伝導速度の低下、自覚症状により臨床的に神経障害ありと診断され、そのことがカルテに記述がされている場合に神経障害ありとした。

低血糖の有無は、過去1か月以内に行われた血糖自己測定において、空腹時血糖が80mg/dL以下が2回/月以上、もしくは低血糖の自覚症状を患者本人が自覚した場合に、低血糖ありとした。

### 4. 円背 (亀背) の定義

Wall-occiput test<sup>10)</sup>にて診断し、陽性と判断された場合に円背ありとした。

### 5. 統計解析

転倒の有無による2群間の臨床項目の差異は、Mann-Whitney U test、カイ二乗検定で解析し、過去1年間の転倒の有無と血糖コントロール状況、治療方法、糖尿病合併症、糖尿病関連項目との関連性は、ロジスティック回帰分析 (ステップワイズ法) で検討した (有意水準5%)。また、転倒の有無を独立変数とし、従属変数に年齢、性別、BMI、治療法、網膜症、腎症、神経障害、

低血糖, HbA1c 値, eGFR 値, 虚血性心疾患, 脳梗塞, うつ病, 認知症, 骨粗鬆症, 糖尿病罹患歴, MMSE として単回帰分析を行った。転倒の有無と相関の強かった項目は外したうえで, 5%水準で有意な項目をロジスティック回帰分析(ステップワイズ法)し, オッズ比(Odds ratio: OR)とその95%信頼区間(95% confidence interval: CI)を算出した。統計解析には, SPSS ver.19を使用した。

### 6. 倫理的配慮

国立長寿医療研究センター倫理利益相反委員会の承認を得て実施した(倫理審査番号 No.475)。調査したデータは匿名化し鍵のかかる所で保管した。調査項目はカルテから調査し, データ解析にのみ使用した。本研究は診察時に FRI と KCL を聞き取り調査し, 文書にて説明し研究の同意を得た。

### III 結果

対象者 300 名の属性は, 年齢(平均±SD)は 73.8 ± 6.1 歳, 身長(同)は 155.6 ± 8.8cm, 体重(同)は 55.9 ± 11.1kg, 糖尿病平均罹病期間(同)は 11.5 ± 9.8 年であった。過去 1 年間転倒の既往は, 95 名が転倒あり, 205 名が転倒なしに分類された。年齢(平均±SD)は, 転倒あり群が 75.5 ± 6.6 歳, 転倒なし群 73.1 ± 5.7 歳であり, その差は有意であった(表 1)。転倒あり群 vs 転倒なし群の FRI スコア(10.1 ± 4.5 vs 6.4 ± 3.5)と KCL スコア(10.6 ± 5.4 vs 4.9 ± 4.4)であった( $p < 0.001$ )。

対象者の背景因子である, 年齢, 性別, 身長, 体重,

BMI, 血圧値, 虚血性心疾患, 脳梗塞, うつ病, 骨粗鬆症, 認知症, MMSE 値, 円背を転倒の有無別に表 1 に示した。同様に, 転倒の有無別に, 糖尿病関連項目である, 糖尿病罹患歴, 治療法, 網膜症, 神経障害, 腎症, 低血糖, HbA1c 値, eGFR 値, KCL で判定した虚弱について, 転倒の有無別にみた糖尿病関連項目として表 2 に示した。

転倒あり群は, 転倒なし群に比較して, 年齢が高く, 身長が低く, 円背があり, 認知症を有し, MMSE 値が低いという傾向が観察された( $p < 0.05$ )。また, 糖尿病関連項目においては, 転倒あり群は転倒なし群に比較して, 低血糖の頻度が高く, 糖尿病罹患歴が長く, 網膜

表 1 対象者の臨床背景

	転倒あり (n = 95)	転倒なし (n = 205)	P
年齢(歳)	75.5 (6.6)	73.1 (5.7)	0.005
性別:男/女	40/55	109/96	0.075
身長(cm)	153.5 (8.8)	156.5 (8.7)	0.011
体重(kg)	55.5 (2.3)	56.1 (10.5)	0.530
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	23.4 (4.2)	22.8 (3.7)	0.254
収縮期血圧(mm/Hg)	135.8 (18.4)	134.1 (17.6)	0.085
拡張期血圧(mm/Hg)	74.8 (11.7)	78.5 (13.8)	0.441
虚血性心疾患	16 (16.8)	33 (16.1)	0.868
脳梗塞	12 (12.6)	24 (11.7)	0.849
うつ病	3 (3.2)	5 (2.4)	0.711
骨粗鬆症	27 (28.4)	82 (40)	0.054
認知症	23 (24.2)	26 (12.6)	0.018
MMSE (点)	24.7 (3.2)	25.6 (3.6)	0.044
円背	16 (44.4)	22 (23.2)	0.030

BMI: Body Mass Index

MMSE: Mini Mental State Examination

Average (SD) n (個数) 比率 (%) 有意水準  $p < 0.05$

表 2 転倒の有無別にみた糖尿病関連項目

項目	分類	転倒あり (n = 95)	転倒なし (n = 205)	p
糖尿病罹患歴(年)		13.7 (10.4)	10.5 (9.5)	< 0.001
治療法 n (%)	食事・運動	22 (23.2)	57 (27.8)	0.459
	経口薬	48 (50.5)	118 (57.6)	0.327
	インスリン	14 (14.7)	17 (8.3)	0.078
	インスリン+経口薬	11 (11.6)	13 (6.3)	0.222
網膜症 n (%)	網膜症なし	44 (46.3)	129 (62.9)	0.004
	単純	24 (25.3)	45 (22)	0.287
	前増殖	14 (14.7)	20 (9.8)	0.130
	増殖	13 (13.7)	11 (5.4)	0.003
神経障害 n (%)		44 (46.3)	73 (35.6)	0.077
腎症 n (%)	I	25 (26.3)	82 (40)	0.049
	II	45 (47.4)	82 (40)	0.387
	III	14 (14.7)	33 (16.1)	0.058
	IV	8 (8.4)	6 (2.9)	0.018
	V	3 (3.2)	2 (1.0)	0.143
低血糖 n (%)		24 (25.3)	24 (11.7)	0.004
HbA1c %		7.2 (1.2)	6.9 (1.1)	0.024
eGFR, ml/min/1.73m <sup>2</sup>		58.5 (19.5)	63.8 (18.5)	0.010
虚弱 n (%)		59 (62.1)	49 (23.9)	< 0.001

HbA1c: Hemoglobin A1c

eGFR: estimated glomerular filtration rate

Average (SD) n (個数) 比率 (%) 有意水準  $P < 0.05$