

体毛を利用した時計遺伝子発現測定法による重度認知症患者の概日時計機能評価

松村律子¹⁾，山口 藍¹⁾，辰元宗人²⁾，明石 真¹⁾

1) 山口大学 時間学研究所

2) 獨協医科大学 神経内科

【研究の背景】

加齢は概日時計の機能異常を起こすことが示唆されてきた。特に、睡眠覚醒の概日リズムにおいて位相前進・断片化・平坦化が報告されている（文献1）。その原因として、高齢者における概日時計調節には、比較的高照度の光が必要であることが指摘されている。一方で、松果体からのメラトニン分泌量および視交叉上核におけるメラトニン受容体発現量の低下も示唆されてきた。さらに、加齢にともなう視交叉上核の解剖学的変化についても報告がある。このように、加齢は光入力経路および視交叉上核の機能低下を起こすことが強く示唆されている。

【目 的】

重度の認知症を患う後期高齢者において、行動や睡眠の概日リズムに顕著な異常を示す患者を対象とし、時計遺伝子発現に基づいた概日時計本体の機能評価を実施した。時計遺伝子発現リズムの位相を推定することで、これらの患者において、光入力から視交叉上核を介して末梢時計に至る経路が正常に機能しているか評価した。

【方 法】

加齢や認知症が概日時計に与える影響を明らかにするために、行動リズムの異常が著しい高度認知症を患う後期高齢者を対象としている。患者は自力歩行ができず、一日のほとんどを施設内で過ごしており、自然光を浴びる機会が少ない。年齢に伴って光受容能の低下が起こることから、概日時計機能障害が起きていることが予想され、本研究では光照射による認知症状や行動リズムへの改善効果についても検討した。患者は男性1名と女性4名であり、年齢は83から94歳の範囲である（以下では、患者AからEとする）。MMSEは4名が2点以下であり、さらにFASTでは全ての患者がステージ7に分類された。患者の生活スケジュールは規則正しいことから（6-7時に起床、8時頃に朝食、12時頃に昼食、18時前後に夕食、そして20時前後に就寝）、環境要因において患者間で大きな違いは存在しない。行動記録には腕時計型の装置を用い、時計遺伝子発現解析は、私たちが以前報告した体毛を用いた方法を用いた（文献2）。行動記録開始後37日目より、眼鏡型LED装置（最大波長500nm）を用いて、午前中に1時間×2回の光照射を毎日実施した。

【結 果】

行動リズムにおいて、患者AやDでは振幅の増大、患者Bでは夜間の活動量の明確な減少が検出された。患者CとEでは、ほとんど何も変化が検出されなかった。ところで、光照射によって、全ての患者においてMMSEおよびFASTにおいて改善は全く検出されなかったが、NPI-Qにおいては改善が見られた。重症度の改善が患者Aで顕著であり、患者DとEについても僅かだが改善された。介護者負担については、全ての被験者において改善が確認された（患者Bは肺炎のために調査を実施していない）。数値データとしては示されていないが、患者AとEについては自発的に食事行動をとるようになった。しかし、光治療を終了すると、元の状態に戻ってしまった。

高齢者の行動リズム異常は、光受容・網膜神経伝達経路・中枢時計機構・末梢時計への情報伝達経路・末梢時計機構など、概日時計システムのさまざまな段階の機能不全に起因する可能性がある。これらのいずれかに異常が起きた場合、末梢時計の位相に異常が生じるはずである。そこで、私たちは、引き抜いた毛の毛根に付着する毛包細胞の時計遺伝子発現リズムを調べることで、末梢時計の位相を評価することにした。患者の頭髪を約 6 時間おきに最大 10 本採取して凍結保存した。全サンプルが集まったら RNA 精製と逆転写を行った後、リアルタイム PCR 法によって時計遺伝子 *Period3*, *Nr1d1* (*Rev-erb α*) および *Nr1d2* (*Rev-erb β*) の発現量を測定した。データは、細胞種や時間によらず発現量が一定である 18S-rRNA によって補正した。どの被験者でも、光照射の前後とも、3 つの時計遺伝子発現において明確な概日リズムが確認できた。患者の発現リズム位相は、光照射の有無にかかわらず、ほぼ正常の範囲であった。ただ、光照射前において被験者間では最大で 4 時間程度の位相の差異が存在していたが、光照射後は約 2 時間程度にまで狭まっていたことから、若干の概日位相の修正効果があったのかもしれない。

【考 察】

私たちの過去のデータによると、健常人の毛包細胞を採取して発現レベルを測定すると、*Period3* の発現ピークは起床から 1 から 3 時間前に出現していた。重度の睡眠相後退症候群の患者では、*Period3* の位相が大幅にずれることが確認されている。しかし、今回の患者群では、光照射を行う前から、時計遺伝子発現位相は正常な範囲に収まっていた。振幅にも特別な異常は見られなかった。このことは、行動リズム位相の異常にもかかわらず、患者の概日時計は外的環境に正常に同調しており、末梢時計まで同調シグナルが正常に伝わっていたことを示唆している。患者は自力歩行ができないため太陽光を浴びる機会は少なく、また高齢者の概日位相調節には若年者よりも高照度が必要であるため、患者の末梢時計が正常位相でリズムを刻んでいたことは私たちの予想を覆すものだった。患者の概日アウトプット経路に異常がある可能性が残されるが、光照射による行動改善と末梢位相変化には相関関係が見いだされなかったことから、患者の行動異常に概日アウトプットの異常が関与する可能性は小さいかもしれない。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

高度認知症の患者群に対して、眼鏡型 LED 装置（最大波長 500nm）を用いて、起床後の青色光照射を一ヶ月以上にわたって実施したところ、一部の被験者において行動リズムの顕著な改善が観察された。この結果は、過去の多くの光治療の報告を支持するものである。ところで、ある光照射の研究では、中度認知症患者の行動リズムのみならず症状の改善も報告されているが（文献 3）、今回の実験でははるかに重度の認知症患者においても LED を用いることで同様の効果が得られることを示した。これは、患者の重症度に関わらず、光治療の意義を強く示唆している。今回使用した眼鏡型 LED 照射装置は医療現場への導入が容易である。

【参考・引用文献】

- (1) Czeisler CA, *et al.* Association of sleep-wake habits in older people with changes in output of circadian pacemaker. *Lancet* **340**, 933-936 (1992).
- (2) Akashi M, *et al.* Noninvasive method for assessing the human circadian clock using hair follicle cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**, 15643-15648 (2010).
- (3) Riemersma-van der Lek RF, Swaab DF, Twisk J, Hol EM, Hoogendijk WJ, Van Someren EJ. Effect of bright light and melatonin on cognitive and noncognitive function in elderly residents of group care facilities: a randomized controlled trial. *JAMA* **299**, 2642-2655 (2008).